

La réaction nucléaire de Turchini, Castel et Kien.

Son application à l'étude
de quelques cellules tumorales.

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine
de Montpellier

le 13 Juillet 1945

PAR

BERNARD MAZEL

Diplômé d'hygiène

Moniteur d'histologie à la Faculté de Médecine

né le 13 juillet 1920, à Thézan-les-Béziers (Hérault)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

EXAMINATEURS
DE LA THÈSE

MM. TURCHINI, Professeur, *Président*.
GRANEL, Professeur.
HARANT, Agrégé.
CADERAS de KERLEAU, Agr. } *Assesseurs*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

1945

La réaction nucléaire de Turchini, Castel et Kien.

**SON APPLICATION
A L'ÉTUDE DE QUELQUES CELLULES TUMORALES.**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

La réaction nucléale de Turchini, Castel et Kien.

Son application à l'étude
de quelques cellules tumorales.

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine
de Montpellier

le 13 Juillet 1945

PAR

BERNARD MAZEL

Diplômé d'hygiène

Moniteur d'histologie à la Faculté de Médecine

né le 13 juillet 1920, à Thézan-les-Béziers (Hérault)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

EXAMINATEURS DE LA THÈSE	{	MM. TURCHINI, Professeur, <i>Président</i> .	{	<i>Assesseurs</i>
		GRANEL, Professeur.		
		HARANT, Agrégé.		
		CADERAS de KERLEAU, Agr.		

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

—
1945

PERSONNEL DE LA FACULTE

PROFESSEURS

Chaires :

Anatomie	MM. J. DELMAS.
Histologie	TURCHINI.
Physiologie	HÉDON.
Chimie biologique médicale et toxicologie	CRISTOL.
Physique médicale	PECH.
Anatomie pathologique et médecine expérimentale	BAUMEL.
Microbiologie	LISBONNE.
Pathologie et thérapeutique générales	PAGÈS.
Thérapeutique et matière médicale	JANBON.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	PUECH.
Hygiène	CARRIEU.
Médecine légale et médecine sociale	VIDAL.
Pathologie médicale et clinique propédeutique	BOULET.
Clinique médicale	L. RIMBAUD.
— — — — —	GIRAUD <i>doyen</i> .
Clinique chirurgicale	MASSABUAU.
— — — — —	LAPEYRE.
Clinique obstétricale	N...
Clinique des maladies mentales et nerveuses	EUZIÈRE, <i>doyen hon.</i>
Clinique des malad. des enf. et hygiène du 1 ^{er} âge	BOUDET.
Clinique de dermato-syphiligraphie	MARGAROT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ETIENNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	JEANBRAU, <i>assesseur</i>
Clinique gynécologique	AIMES
Clinique ophtalmologique	DEJEAN.
Clinique d'oto-rhino-lar. et chir. maxillo-faciale	TERRACOL.

Charges de cours :

Anatomie.....	LAUX.
Histologie.....	GRANEL.
Radiologie.....	LAMARQUE.

Professeurs honoraires

MM. BERTIN-SANS, CABANNES, GALAVIELLE,
VIREs, BOSc, VILLARD, GRYNFELTT, RICHe

CHARGÉS d'ENSEIGNEMENTS COMPLÉMENTAIRES

Chimie.....	MONNIER <i>agrégé</i> .	Clinique de la tuber- culose.....	VIDAL, <i>professeur</i> .
Microbiologie	CARRÈRE <i>agrégé</i> .	Pathologie et propé- deutique chirurgicale	MOURGUE- MOLINES, <i>agr.</i>
Histoire nat. médic.	HARANT, <i>agrégé</i> .	Pathologie chirurg..	TRUC, <i>agrégé</i> .
Pharmacologie	HARANT, <i>agrégé</i> .	Chirurgie expérim....	N...
Pathologie médicale.	BOUCOMONT, <i>agr.</i>	Médecine opératoire.	ROUX, <i>agrégé</i> .
— — — — —	BERT, <i>agrégé</i> .	Accouchements	CADERAS
Propédeutique médi.	P. RIMBAUD, <i>agr.</i>	de KERLEAU, <i>agr.</i>	
Clinique interne.....	PUECH, <i>professeur</i> .	Stomatologie	HOUPERT <i>Dr. en méd.</i>
Clinique des malad. contagieuses	JANBON, <i>professeur</i> .		

AGRÉGÉS EN EXERCICE

Médecine	MM. P. RIMBAUD	Chirurgie.....	MM. MOURGUE-MOLINES
—	BOUCOMONT	—	ROUX
—	BERT	Urologie	TRUC
—	LAFON, <i>chargé d'agr.</i>	Accouchements....	CADERAS
Chimie.....	MONNIER.		DE KERLEAU
Bactériologie ...	CARRÈRE.		
Hist. nat. médic.	HARANT.		



A MA FEMME

A MES ENFANTS

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

auxquels je dois tout.

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS MES PARENTS

MEIS ET AMICIS

A NOTRE MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. TURCHINI

Professeur d'Histologie à la Faculté de Médecine de Montpellier
Chevalier de la Légion d'honneur

*qui a bien voulu nous confier ce travail
et nous faire le très grand honneur de
présider notre thèse inaugurale.*

*Qu'il reçoive aujourd'hui le témoignage
de notre profonde reconnaissance pour
l'aide et l'encouragement, qu'il nous a
toujours prodigués au cours de nos études
et de notre monitorat dans son Labora-
toire.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR FR. GRANEL

Professeur à la Faculté de Médecine
Chevalier de la Légion d'honneur

avec nos remerciements sincères et respectueux pour la bienveillante sollicitude qu'il nous a toujours témoignée durant deux années passées au Laboratoire d'Histologie.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ H. HARANT

qui a bien voulu accepter de juger notre travail.

En témoignage de respectueuse reconnaissance.

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ J. CADERAS DE KERLEAU

qui nous a toujours prodigué ses conseils tant dans notre vie familiale que dans notre vie estudiantine.

Qu'il reçoive ici l'expression de toute notre gratitude.

A TOUS MES MAITRES DE LA FACULTÉ

A MONSIEUR LE DOCTEUR CH. BONHOMME

ET A TOUS MES CAMARADES DU LABORATOIRE D'HISTOLOGIE

INTRODUCTION

Depuis plusieurs années l'histochimie du noyau a attiré l'attention de nombreux chercheurs. Le premier, MIESCHER, en 1869, essaya de déterminer la composition chimique de cet élément. Etudiant les globules du pus, il isola dans leurs noyaux une substance qu'il appela « nucléine ». Il chercha à établir sa composition chimique et put seulement démontrer qu'elle contenait du phosphore. Quelques années plus tard, il découvrit que ces nucléines étaient des sels d'un protide basique et d'une substance à caractère acide qu'il dénomma « acide nucléique ».

Vers la même époque, HOPPE SEYLER, KOSSEL et MIESCHER montrèrent que ces substances se retrouvaient dans les noyaux de nombreuses cellules. Depuis lors, les histochimistes se sont efforcés de préciser la nature de ces nucléines et ont essayé de les localiser dans le noyau même des cellules.

Plusieurs méthodes furent imaginées et employées pour déterminer cette localisation.

Les premiers auteurs essayèrent d'abord de détecter les nucléines en employant l'analyse chromatique et chromolytique. Mais les méthodes se basant sur la colorabilité et la solubilité des acides nucléiques ont dû être délaissées. Elles ne permettaient pas de mettre en évidence la structure chimique des noyaux, mais seulement de les différencier. Elles ont d'ailleurs conduit à de grossières erreurs.

Plus tard, d'autres chercheurs essayèrent de rendre visibles les constituants minéraux des acides nucléiques tels que le fer et le phosphore. Pour le phosphore, LILIENFELD et MONTI avaient proposé une réaction permettant de le dissocier de la molécule de nucléoprotéide par l'acide nitrique et de le caractériser par l'action du pyrogallol. Ils faisaient agir le molybdate d'ammonium transformé par le phosphore en phosphomolybdate d'ammonium ; c'est ce corps qui était coloré par le pyrogallol. Mais le pyrogallol colore aussi, d'une façon un peu différente il est vrai, le molybdate d'ammonium qui se fixe très fortement sur certains constituants cellulaires, et la différence de coloration n'est pas visible sur les coupes histologiques. Plusieurs auteurs essayèrent de pallier à cet inconvénient en employant à la place du pyrogallol, soit le chlorure stanneux (POLACCI), soit le chlorhydrate de phénylhydrazine (MACALLUM), mais ils ne parvinrent pas à de meilleurs résultats.

Quant au fer, MIESCHER, MACALLUM pensaient que c'était un élément constant des nucléines. Or ce fer, provenait des impuretés véhiculées par les réactifs et il est actuellement démontré que les acides nucléiques n'en possèdent pas dans leur molécule.

Ces méthodes ne pouvant être retenues, on chercha alors à identifier les nucléines en se servant de l'action spécifique d'un ferment, la « nucléase ».

VAN HERVERDEN et JORGANSEN appliquèrent sur les tissus animaux la propriété démontrée par SACHS « in vitro » qu'ont les nucléases de dissoudre les acides nucléiques à l'exclusion de tout autre constituant cellulaire. Là aussi de nombreuses objections furent faites et en particulier celle que de nombreuses nucléines pouvaient résister à l'action des nucléases selon l'état de combinaison des acides nucléiques ; de plus il est très difficile, voire même impossible d'obtenir des nucléases à l'état vraiment pur (LISON).

Ces essais ne furent pas plus fructueux que les précédents et il faut arriver à FEULGEN et ROSSENBECK pour trouver une réaction vraiment histochimique des constituants nucléaires.

Après une hydrolyse convenable ils font agir le réactif de Schiff. Ce sont ces différentes opérations aboutissant à une véri-

table réaction au sein même des noyaux que FEULGEN appela « réaction nucléale ».

De même J. BRACHET, par la technique d'Unna-Pappenheim, parvint à identifier par déduction, comme nous le verrons ultérieurement, l'acide zymonucléique.

Tout récemment TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN en recherchant l'action des diverses fluorones sur les tissus, découvrirent une nouvelle réaction nucléale s'apparentant, par l'hydrolyse préalable, à celle de Feulgen et donnant des colorations plus belles et beaucoup plus fines.

De là l'idée qui nous a été proposée par notre Maître, Monsieur le professeur Jean TURCHINI, d'appliquer ces réactions nucléales et en particulier cette dernière à l'étude des noyaux de diverses cellules tumorales.

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUES

§ 1. — La réaction nucléale de Feulgen-Rossenbeck.

Les acides nucléiques contenus dans les tissus vivants sont de deux sortes : l'acide thymonucléique que l'on rencontre surtout dans les noyaux, et l'acide zymonucléique. Ces deux acides diffèrent par la nature du groupement hydrocarboné et par les bases puriques et pyrimidiques.

Tous deux donnent à l'hydrolyse totale quatre sortes de constituants :

Acide phosphorique,
Glucide,
Bases pyrimidiques,
Bases puriques.

L'hydrolyse ménagée des acides nucléiques montre que l'on peut obtenir des composés définis renfermant chacun au moins une molécule d'acide phosphorique, une molécule d'ose, une molécule de base purique ou de base pyrimidique. Ce complexe est appelé nucléotide.

Chaque molécule d'acide nucléique est formé de quatre nucléotides qui sont unis de la façon suivante :

Acide phosphorique-glucide-pyrimidine.

Acide phosphorique-glucide-purine

Acide phosphorique-glucide-pyrimidine.

Acide phosphorique-glucine-purine.

Nous laisserons de côté la nature des bases puriques et pyrimidiques qui ne nous intéresse pas ici. Nous noterons simplement que les acides thymonucléiques et zymonucléiques diffèrent par leur molécule d'ose. Le premier renferme comme sucre du *d*-ribodésosse, le deuxième du *d*-ribose.

La réaction de Feulgen caractérise l'acide nucléique contenu dans les noyaux cellulaires, c'est-à-dire l'acide thymonucléique, mais ne met pas en évidence l'acide zymonucléique. Elle est basée sur la propriété qu'a le réactif fuchsine sulfureux ou réactif de Schiff d'être recoléré par les aldéhydes.

FEULGEN considère que l'hydrolyse chasse les deux molécules de purine de la molécule d'acide thymonucléique, démasque de ce fait deux molécules de ribodésosse et libère un groupement glucidique qui est le « nucléal » hexose possédant un groupement aldéhydique vrai ; LEVÈNE a montré que ce sucre est un désoxypentose : le *d*-ribodésosse, ne possédant aucune fonction aldéhydique, mais ayant quand même la propriété de recolérer le réactif fuchsine sulfureux. Ce glucide aurait, d'après LISON, une fonction pseudo-aldéhydique.

Les coupes sont déparaffinées par des bains successifs de xylol et alcools décroissants. Elles sont ensuite hydrolysées d'abord à froid pendant une minute, puis à chaud pendant 10-15 minutes à 60° dans l'acide chlorhydrique normal (acide chlorhydrique

pur de densité 1,29 : 82 cc. 5 pour un litre d'eau distillée). Après lavage à l'acide chlorhydrique froid, puis à l'eau distillée, les préparations sont plongées dans un tube de Borrel contenant le réactif de Schiff. Ce réactif est préparé selon la technique de Feulgen :

Fuchsine basique pulvérisée	1 g.
Eau distillée	200 cc.
Dissoudre à chaud et après refroidissement ajouter :	
Bisulfite de soude à 30 %	3 cc.
Laisser reposer pendant une heure et verser :	
Acide chlorhydrique normal	20 cc.

La décoloration du réactif est complète en 24 heures.

Toute solution n'ayant pas pris une teinte jaune pâle doit être rejetée.

Les coupes sont laissées dans ce réactif pendant une heure et demie environ, selon la nature des tissus. Elles sont successivement lavées dans trois tubes de Borrel contenant la solution sulfureuse de lavage :

Bisulfite de soude liquide du commerce	10 cc.
Acide chlorhydrique normal	10 cc.
Eau ordinaire	200 cc.

Lavées très soigneusement dans l'eau distillée, les coupes sont ensuite déshydratées et montées.

Les points de la préparation où se trouve l'acide thymonucléique ont pris une coloration violette plus ou moins foncée.

La réaction de Feulgen se divise en deux temps :

1^o une hydrolyse acide des tissus libérant un groupement hydrocarboné de la molécule d'acide thymonucléique ;

2^o l'action du réactif fuchsine-sulfureux sur cette fonction pseudo-aldéhydrique.

Il faut de plus obtenir une coloration avec le réactif de Schiff après une hydrolyse acide et ne rien obtenir avec ce même réactif agissant sur une préparation non hydrolysée.

§ 2. — La technique de J. Brachet.

La technique de Brachet sert surtout à caractériser l'acide zymonucléique ou pentosonucléique, mais elle met aussi en évidence l'acide thymonucléique.

Les pièces sont rapidement fixées par le réactif de Carnoy :

Chloroforme	3 volumes
Alcool absolu	6 —
Acide acétique cristallisable	1 —

puis incluses en paraffine ou coupées à la congélation.

Après passage dans les divers alcools, les coupes sont colorées par la méthode d'Unna-Papenheim. La solution servant à la coloration est un mélange en parties égales de :

Vert de méthyle	4 g.
Acide phénique cristallisable	5 g.
Eau distillée	100 cc.
Pyronine	4 g.
Acide phénique cristallisable	5 g.
Eau distillée	100 cc.

Ce mélange doit être préparé extemporanément.

Les coupes sont colorées à froid pendant 30-60 minutes ou à chaud à 60° pendant un temps moins long.

Laver à l'eau distillée, puis différencier par l'alcool à 90°.

Déshydrater par l'alcool absolu ou l'alcool amylique.

Monter.

L'acide pentosonucléique se colore en rouge, tandis que l'acide thymonucléique prend une teinte bleue.

Si l'on fait agir préalablement une enzyme qui hydrolyse l'acide pentosonucléique, la ribonucléase ou zymonucléase, on constate que, après la coloration d'Unna-Papenheim, le cytoplasme n'est plus coloré en rouge. L'acide zymonucléique ayant été détruit par la zymonucléase et la pyronine ne donnant de ce fait aucune coloration, nous pouvons admettre avec BRACHET que cette réaction est spécifique et permet d'identifier l'acide pentosonucléique.

Deux réactions doivent être faites :

La première sur une coupe sans aucune préparation. La méthode d'Unna-Pappenheim donne une coloration rouge. La deuxième sur une coupe ayant subi l'hydrolyse par la zymonucléase. On n'obtient plus aucune coloration au niveau des points de la préparation où il existait de l'acide zymonucléique ou pentosonucléique.

La technique de Brachet met donc en évidence les deux acides nucléiques, mais n'est spécifique que pour l'acide zymonucléique.

La difficulté de cette technique est qu'il faut agir par comparaison et pratiquer deux colorations par la méthode d'Unna-Pappenheim :

La première directement.

La deuxième après hydrolyse complète par la zymonucléase.

En comparant les deux colorations obtenues, l'on déduit les points de la coupe où la teinte rouge a disparu après l'hydrolyse. C'est en ces points que se trouvait l'acide zymonucléique.

§ 3. — La réaction de Turchini, Castel et Kien.

Cette réaction nécessite elle aussi une hydrolyse préalable. Cette hydrolyse libère de la molécule d'acide nucléique, un sucre qui va donner une réaction colorée avec une solution de phényl ou de méthyl trihydroxy fluorone.

Les meilleurs résultats sont obtenus avec la 9 phényl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone, aussi ne rappellerons-nous la technique que pour ce réactif.

Les pièces sont fixées par exemple, dans de l'alcool, du formol neutre ou divers fixateurs usuels et incluses en paraffine ou coupées à la congélation.

Les coupes sont passées dans l'alcool absolu et l'alcool à 90°. Elles sont ensuite hydrolysées à froid pendant un temps plus ou moins long suivant la nature des pièces dans une solution alcoolique d'acide chlorhydrique :

Acide chlorhydrique pur de densité 1,29	8 cc. 25
Alcool à 90°	100 cc.

Les meilleurs temps d'hydrolyse pour les pièces humaines, fixées comme il a été dit précédemment, sont de 10 à 15 minutes.

Après hydrolyse, les coupes sont colorées par la solution de :

9 phényl, 2, 3, 7, trihydroxy, 6 fluorone	0 g. 08
Alcool à 95°	100 cc.

Laisser agir le réactif suivant un temps variable jusqu'à ce que la coupe prenne une coloration marron clair.

Essuyer l'excès de colorant sur la lame et plonger les coupes dans l'eau ordinaire. Elles prennent une teinte brune.

Enlever l'excès de colorant par l'alcool absolu, puis mettre les coupes dans une cuvette contenant une solution de carbonate de soude à 1 % ou de carbonate de lithium ou d'ammoniaque. Le bain devant être renouvelé fréquemment.

La coloration vire au violet. Rincer à l'eau ordinaire. Déshydrater soigneusement. Monter.

Avec les mêmes solutions, en laissant agir pendant le même temps, nous avons fait une réaction de contrôle sans hydrolyse. Alors qu'après une hydrolyse convenable on obtient une belle coloration violette des noyaux, sans hydrolyse les noyaux ne sont pas colorés.

Pour augmenter la solubilité de la phényl trihydroxy fluorone et obtenir une solution plus limpide, on peut ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique pur à la solution alcoolique colorée. Les premiers jours les résultats ne sont pas changés et la réaction de contrôle faite sans hydrolyse ne donne aucune coloration nucléaire.

Mais le pH de cette solution tend vers l'acidité et au bout de quelques jours, le pH étant voisin de 2, la réaction de contrôle est positive et nous montre des noyaux colorés en violet. Toutefois cette coloration des noyaux n'est pas uniforme et dans certaines zones où l'hydrolyse a été moins intense, on ne note aucune coloration nucléaire.

Avec une solution de phényl trihydroxy fluorone ayant un pH voisin de la neutralité, l'hydrolyse acide préalable est nécessaire pour obtenir une coloration. En employant une solution contenant de l'acide sulfurique et ayant un pH voisin de 2, nous

pouvons supposer que l'hydrolyse se fait en même temps que la coloration et que nous sommes en présence d'une réaction nucléaire se faisant en un seul temps.

Vu le manque d'uniformité de coloration, nous conseillons quand même de pratiquer une hydrolyse acide préalable quelle que soit la solution de phényl trihydroxy fluorone employée. De même nous signalerons que pour les tissus végétaux et pour les tissus animaux durs, l'hydrolyse préalable devra être plus longue : entre 25 et 50 minutes suivant la nature de la pièce.

Si l'on emploie des fixateurs tels que le liquide de Bouin, contenant un acide fort et dont le pH est voisin de 2, et si l'on y laisse séjourner les pièces plus de 3 jours, on peut obtenir une coloration, l'hydrolyse s'étant faite en même temps que la fixation.

Nous avons nous-même employé des fixateurs très différents, d'autres travailleurs du laboratoire ont opéré sur des coupes fixées au Flemming, au Helly, au Navaschine, au Zenker. Nous avons toujours obtenu de bons résultats.

TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN ont montré expérimentalement que c'étaient bien les sucres provenant de l'hydrolyse des acides nucléiques qui se coloraient. Ils ont opéré sur des acides nucléiques obtenus à l'état pur et donnant des réactions caractéristiques avec le B naphthol sulfurique et le tryptophane. Ils obtinrent les mêmes colorations sur papier filtre ou en tubes à essais que celles obtenues sur les coupes histologiques au niveau des noyaux et du cytoplasme. Ils ont montré ensuite que des solutions des diverses fluorones ne donnaient rien avec les acides phosphoriques quel que soit le pH , avec les bases puriques ou pyrimidiques contenues dans les molécules d'acides nucléiques. Mais au contraire, ces mêmes solutions donnent sur papier filtre ou en tube à essai, des réactions colorées avec différents sucres. En particulier, avec la solution de 9 phényl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone, ils obtiennent avec le *d*-ribodésose, la même coloration bleu-violacé, que sur les coupes histologiques au niveau du noyau.

Au niveau du cytoplasme, la coloration jaune-orangé est la même que celle obtenue avec le *d*-ribose sur papier filtre.

Donc l'hydrolyse libère le *d*-ribodésose de l'acide thymonucléique et le *d*-ribose de l'acide zymonucléique, ce sont ces deux hydrates de carbone qui donnent avec la solution de 9 phényl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone une coloration, le premier bleu-violacé, le deuxième jaune-orangé.

La réaction de Turchini, Castel et Kien est supérieure à celle de Feulgen-Rossenbeck, car d'une part elle colore non seulement l'acide thymonucléique, mais encore l'acide zymonucléique, et d'autre part les colorations obtenues sont beaucoup plus fines et plus nettes que dans n'importe quelle autre coloration nucléaire.

En résumé, nous possédons trois réactions permettant de différencier les acides thymo et zymonucléique :

1^o La réaction de Feulgen-Rossenbeck, qui caractérise spécifiquement mais seulement l'acide thymonucléique ;

2^o La technique de Brachet, qui n'est spécifique que pour l'acide zymonucléique ; technique délicate à pratiquer et d'interprétation des colorations par comparaison difficile ;

3^o La réaction de Turchini, Castel et Kien, qui met en évidence les deux acides nucléiques à la fois : l'acide zymonucléique et l'acide thymonucléique par les sucres qu'ils libèrent.

CHAPITRE II

RÉSULTATS DÉJÀ OBTENUS SUR LES NOYAUX DES CELLULES ANIMALES ET VÉGÉTALES.

Avant de passer à nos observations personnelles faites sur quelques tumeurs, nous exposerons dans ce chapitre les travaux déjà effectués et les résultats obtenus grâce à la réaction de Turchini, Castel et Kien.

TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN ont fait porter leurs premières études sur les noyaux de cellules animales, puis des racines d'Ail et de Lupin ; ils ont aussi étudié les Levures et les Bactéries.

TURCHINI et GOSSELIN ont étudié les noyaux de diverses cellules végétales.

Nous allons d'abord passer en revue les observations faites sur les noyaux quiescents chez les animaux, puis chez les végétaux ; nous verrons ensuite la structure des noyaux en état de division dans les deux règnes et nous terminerons en rappelant les résultats obtenus sur les Levures et les Bactéries.

1^o Noyaux quiescents.

a) *Chez les animaux.*

TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN ont étudié les noyaux au repos des cellules du réticulum splénique de *Callithris per-*

sonata Geoff. Grâce à leur réaction, ils ont décrit à l'intérieur du noyau des granulations chromatiques fortement teintées en bleu violet, analogues à celles qu'ils décrivent dans les chromosomes des noyaux en division et qu'ils pensent être des chromomères. Ces granulations, colorées en bleu violet, donc formées par l'acide thymonucléique, sont parfois disposées sur une sorte de filament (filament spiral ou spiremoïde) ayant pris une coloration jaune voisine de celle du nucléole plasmatique, lequel nucléole est situé quelquefois à l'extrémité d'une chaîne de granulations.

Des observations portant sur les glandes salivaires des Diptères montrent que les noyaux de leurs cellules sont constitués par un long filament chromatique qui a été considéré par PAINTNER et KOLTZOFF comme le chromosome composé d'un véritable élément polyploïde.

BALBIANI avait déjà décrit dans ce filament des bandes transversales qui résulteraient de la fusion des chromomères homologues. Cette structure déjà mise en évidence par des colorants variés, par l'examen en lumière ultraviolette, par l'historadiographie, est caractéristique après la réaction de Turchini, Castel et Kien.

Ces auteurs ont étudié les noyaux des cellules des glandes salivaires de *Chironomus plumosus* L. Le long filament chromatique présente des bandes sombres colorées en bleu violacé et vraisemblablement constituées par une agglomération de chromomères, alternant avec des bandes claires jaune bistre, ayant pris la même coloration que le nucléole.

Une structure identique a été observée au niveau des filaments chromatiques des noyaux des cellules des tubes de Malpighi de la même larve.

b) Chez les végétaux.

Des observations identiques ont été faites chez les végétaux.

TURCHINI et GOSSELIN ont étudié des noyaux de nombreuses cellules végétales ;

1^o Noyaux homogènes :

Noyaux à prochromosomes de *Ficus macrophylla* Desf.,

Livistinia cochinchensis Blume ;

Noyaux à euchromocentres de *Phaseolus vulgaris* L.

Les prochromosomes et les euchromocentres sont plus apparents par la réaction de Turchinî, Castel et Kien, que par toute autre réaction nucléaire, en particulier celle de Feulgen. Les contours des prochromosomes sont plus nets et plus fins. Le nucléole est toujours coloré en jaune rosé.

2^o Noyaux réticulés à chromocentres :

Osmunda regalis L.,

Carvota bacsomensis M.

Les granulations chromatiques sont fortement colorées en bleu violet et sont disposées sur un réseau de teinte jaune orangé rappelant totalement la structure des noyaux des cellules animales. Les nucléoles plasmatiques ont aussi la même teinte jaune orange que le réseau.

TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN ont fait les mêmes observations sur les noyaux des radicules d'*Allium sativum* L. et de *Lupinus albus* L. Ils ont de plus étudié l'hétérogénéité du nucléole qui est plus marqué dans les cellules du Lupin que dans celles de l'Ail. Leur réaction met en évidence deux zones dans le nucléole des noyaux du Lupin, à l'intérieur d'une masse colorée en jaune orangé se trouve deux ou trois vacuoles et des granulations de teinte plus claire.

2^o Noyaux en division.

a) Chez les animaux.

Étudiant les noyaux des Spermatocytes de la glande hermaprodite d'*Helix aspersa* Müller, TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN ont noté la présence de granulations chromosomiques colorées en bleu violacé, disposées sur deux rangées parallèles, le reste du chromosome ayant pris par la réaction à la phényl trihydroxy fluorone, une teinte plus claire.

Ces granulations sont agglomérées et irrégulièrement disposées au stade du chromonema : lorsque le chromosome se fissure, donnant naissance à deux chromatides, ces granulations que ces auteurs pensent être analogues aux chromomères auxquels on tend à faire jouer un si grand rôle au point de vue génétique, se disposent régulièrement en rangées parallèles.

Ces chromosomes se groupent et se condensent au moment de la formation des tétrades.

b) Chez les végétaux.

Dans les noyaux des cellules du méristème radiculaire d'*Alium sativum* L. et de *Lupinus albus* L., TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN ont fait des observations identiques à celles déjà faites dans les noyaux des cellules animales en division.

Les chromosomes possédant une structure hétérogène baignent dans une caryolymphe incolore. Ces chromosomes présentent des granulations bleu violacé disposées régulièrement à leur intérieur et séparées par une substance ayant pris une teinte jaune bistre.

Dans divers noyaux végétaux, TURCHINI et GOSSELIN ont décrit des structures semblables. Les chromocentres (chromomères) sont disposées latéralement en deux rangées régulières le long des chromosomes. Par la réaction de Turchini, Castel et Kien les chromocentres ont pris une teinte bleu violacé tandis que le reste des chromosomes a pris une coloration jaune bistre identique à celle du nucléole.

Ces études montrent donc que les noyaux animaux et végétaux sont très peu différents, aussi bien à l'état de division qu'au repos. La réaction de Turchini, Castel et Kien met en évidence dans les noyaux cellulaires des deux règnes une structure identique des chromosomes. Ces chromosomes sont constitués :

1^o par des granulations chromatiques (chromocentres ou chromomères) prenant une teinte bleu violacé très intense et contenant donc de l'acide thymonucléique.

2^o par une substance prenant une teinte jaune bistre semblable à celle que prend le nucléole plasmatique et contenant donc un sucre autre que le *d*-ribodésosé.

Dans les noyaux quiescents, on observe des granulations chromatiques bleu violacé disposées sur un réseau jaune bistre.

3° Levures.

WAGER considérait que les noyaux des Levures étaient constitués par une vacuole possédant en son intérieur des grains de chromatine et par un nucléole accolé.

Plus tard GUILLIERMOND montre que les noyaux se réduisent au seul nucléole de WAGER et que les grains intravacuolaires ne sont que des granulations métachromatiques n'ayant aucun caractère microchimique de la chromatine.

TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN ont étudié les levures *Saccharomyces ellipsoïdeus*, Reess et Pasteur.

Leur réaction met bien en évidence la structure décrite par GUILLIERMOND.

Tandis qu'à l'intérieur des nucléoles de WAGER les granulations de chromatine prennent une teinte bleu violacé et sont donc constituées par de l'acide thymonucléique, les granulations métachromatiques de GUILLIERMOND et BABÈS, colorées en jaune orangé, sont donc formées par l'acide zymonucléique.

Les auteurs notent aussi à l'intérieur des vacuoles, des réserves glucidiques ayant pris une teinte différente par la phényl trihydroxy fluorone après hydrolyse.

4° Bactéries.

Les études sur les Bactéries ont amené TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN à confirmer l'existence des granulations qui avaient déjà été mises en évidence par les réactifs ordinaires.

Pour le Bacille de Koch, ils modifient légèrement leur technique. L'hydrolyse est faite par une solution de phényl trihydroxy, fluorone contenant de l'acide sulfurique et vieille de quelques jours. La coloration se fait à chaud pendant quelques minutes, jusqu'à émission de vapeurs. Pour alcaliniser, au lieu de plonger le frottis dans une solution de carbonate de soude à 1 %, ils versent sur la lame une solution alcaline de phényl trihydroxy fluorone dans de la soude.

Les granulations des Bactéries sont fortement colorées en bleu violet, ce qui montre que l'hydrolyse libère du *d*-ribodésosé, provenant de l'acide thymonucléique.

TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN pensent que ce sont bien les granulations qui donnent cette coloration et non la tuberculine qui « in vitro » donne la même teinte bleue violacé avec la phényl trihydroxy fluorone. En effet, la coloration serait diffuse et il n'y aurait aucune structure.

Ils pensent également que ces granulations répondent plutôt aux nucléosomes de HOLLANDE (puisqu'elles contiennent de l'acide thymonucléique) qu'aux granulations métachromatiques de BABÈS.

En terminant ce chapitre, nous soulignerons encore tous les détails de structure qu'a permis d'observer la réaction nucléale de Turchini, Castel et Kien, aussi bien sur les cellules végétales, les Levures, les Bactéries, que sur les cellules animales normales ou pathologiques.

C'est à l'étude des cellules tumorales que nous avons surtout consacré nos efforts.

CHAPITRE III

ÉTUDE DE QUELQUES CELLULES TUMORALES.

Nous avons appliqué la réaction de Turchini, Castel et Kien sur quelques tumeurs, afin de voir s'il y avait une structure spécifique de la cellule cancéreuse, décelable par cette réaction.

Notre étude a porté sur différentes tumeurs : une tumeur mixte de la sous-maxillaire, un épithélioma métatypique de la peau, un épithélioma du corps thyroïde et un épithélioma métatypique du sein.

Toutes ces pièces ont été fixées au liquide de Bouin.

Les coupes ont été colorées par la 9 phényl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone, après une hydrolyse de 15 minutes.

Nous allons exposer successivement les observations que nous avons faites sur ces différentes tumeurs.

1° Tumeur mixte de la sous-maxillaire.

Une vue d'ensemble prise au faible grossissement montre une grande diversité des tissus constitutifs de la tumeur.

1° En certains points, nous voyons des tubes glandulaires à lumière très large, ayant un épithélium simple ou stratifié. A l'intérieur de cette lumière se trouve un coagulum constitué par

un mélange de mucus, d'albuminoïde et de substance colloïde. Ce coagulum a pris une teinte jaune brun. Les tubes glandulaires reposent sur une basale intacte, très nette.

2° En divers endroits de la préparation, nous ne retrouvons plus d'aspect glandulaire typique, nous observons des cordons épithéliaux pleins dont les travées cellulaires irrégulières présentent de loin en loin des cavités glandulaires. Il n'y a pas de limite nette entre le tissu conjonctif et les cordons épithéliaux.

A un fort grossissement, nous notons que la basale est détruite par places et les massifs épithéliaux disloqués.

Les tubes glandulaires d'aspect adénomateux sont constitués par des cellules presque normales, légèrement aplaties.

Au niveau des boyaux épithéliaux les cellules sont déformées, augmentées de volume, le cytoplasme est légèrement teinté en rose, le noyau (fig. 4) est volumineux, irrégulier. Les granulations de chromatine, fortement teintées en bleu violacé et disposées sur un réseau jaune bistre sont surtout groupées près de la membrane nucléaire et autour des nucléoles. Ce noyau présente encore deux nucléoles volumineux ayant pris une teinte jaune bistre.

Dans le tissu conjonctif voisin, la réaction plasmocytaire est assez importante. Les plasmocytes (fig. 8) présentent un cytoplasme allongé rose brun fortement coloré par rapport à celui des cellules glandulaires. Le noyau, repoussé à une extrémité du cytoplasme, présente des grains de chromatine plus volumineux et plus nombreux que ceux des cellules voisines, disposés en forme de damier sur un réseau jaune bistre. Il n'y a pas de nucléole.

2° Epithélioma métatypique de la peau.

Vues à un faible grossissement, les préparations présentent deux zones :

1° A la partie profonde, nous observons de vastes boyaux épithéliaux, ayant un aspect plus ou moins lobulés, et contenant de nombreux éléments cellulaires. Ces boyaux sont creusés en certains endroits de lacunes nécrotiques. Ils sont constitués par

des cellules malpighiennes provenant de la basale ; ces cellules limitent en divers points des cavités plus petites ayant un aspect pseudo-acineux.

2° Au voisinage de la partie superficielle, nous trouvons des globes cornés non kératinisés. La basale a été rompue en de nombreux endroits. A ce niveau, nous avons un épithélioma spino-cellulaire.

Un fort grossissement nous permet de voir la structure des cellules et surtout de leurs noyaux. Aussi bien dans la zone superficielle, que dans la couche profonde, nous rencontrons de nombreuses atypies cellulaires et des mitoses anormales.

Nous avons décrit (fig. 7) une cellule prise dans la zone basocellulaire. Cette cellule présente un cytoplasme allongé, énorme, coloré en rose pâle. Le noyau, très volumineux, est irrégulier. Les grains de chromatine, peu nombreux colorés en bleu violacé, sont toujours disposés sur un réseau jaune bistre. Au centre du noyau se trouvent deux nucléoles : l'un très volumineux, l'autre plus petit, tous deux colorés en jaune bistre.

Ces atypies se rencontrent dans de nombreux noyaux.

3° Epithélioma thyroïdien.

Une vue d'ensemble nous montre :

1° Des vésicules thyroïdiennes typiques de tailles très diverses dont l'épithélium est peu déformé et présente une seule assise de cellules. La cavité vésiculaire est occupée par la substance colloïde qui a pris une coloration rose pâle par la 9 phényl 2, 3, 7 trihydroxy 6 fluorone après hydrolyse. En certains points nous notons déjà un épithélium stratifié et la disparition de la basale. En ces points, il y a une prolifération exovésiculaire.

2° Une zone, où il est difficile de reconnaître des vésicules thyroïdiennes, et où la prolifération des cellules épithéliales est désordonnée et se fait en toutes directions. La polarité cellulaire est ici inexistante. Nous sommes dans une zone où l'atypie est totale.

L'examen histologique au fort grossissement montre au niveau de la première zone certaines cellules à peu près normales voi-

sinant avec des cellules hyperplasiques, à noyaux vésiculeux, parfois monstrueux, parfois bourgeonnant ou en mitose, mais la polarité cellulaire est conservée.

Dans la zone atypique, les monstruosité cellulaires sont beaucoup plus accusées. Ces cellules (fig. 5) présentent un cytoplasme jaune rosé; leur noyau est volumineux, déformé. Des grains de chromatine bleu violacé se trouvent sur un réseau jaune bistre. Les nucléoles nombreux et volumineux colorés en jaune bistre présentent dans certaines cellules, un nucléolule de teinte plus foncée. Ici la polarité cellulaire n'est plus conservée et ces boyaux cellulaires présentent en certains points des zones de dégénérescence et de nécrose.

4° Epithélioma métatypique du sein.

Cette préparation est intéressante à plusieurs points de vue. La plus grande partie est occupée par du muscle grand pectoral. On constate que les fibres musculaires sont colorées en rouge vif par la 9 phényl, 2, 3, 7, trihydroxy, 6 fluorone, ce qui est sans doute dû à la présence de glucides. Le noyau de ces fibres, teinté fortement en bleu violacé, est allongé et présente en son intérieur de nombreux grains de chromatine. En certains points de la préparation se trouvent des cellules graisseuses dont le contenu a été dissous par le xylol; ces cellules ont une membrane très visible colorée en brun noir. Leurs noyaux rejetés à la périphérie ont une teinte bleu violacé et leur chromatine est très concentrée.

Au niveau de la glande mammaire, nous trouvons des cavités glandulaires hyperplasiées dont la lumière est agrandie. L'épithélium de ces tubes glandulaires a proliféré et présente plusieurs assises de cellules. A l'intérieur de la lumière de certains acini, cet épithélium a proliféré sous forme de boyaux cellulaires.

Les cellules glandulaires présentent de nombreuses atypies, des mitoses et des amitoses. Nous avons décrit sur notre planche plusieurs aspects de ces cellules.

Nous avons observé une cellule en état de division mitotique (fig. 1). Les chromosomes sont formés et nous notons une structure chromosomiale identique à celle déjà décrite chez les ani-

maux (TURCHINI, CASTEL et KIEN) et chez les végétaux (TURCHINI et GOSSELIN). Les chromomères sont colorés en bleu violacé tandis que le reste du chromosome a pris une teinte jaune bistre. Nous avons probablement ici une métaphase atypique. Les chromosomes sont disposés irrégulièrement sur la plaque équatoriale. La caryolymphé est incolore, tandis que le protoplasme est légèrement coloré en rose pâle.

A côté de cette division caryocinétique, on trouve des divisions par amitose. GRYNFELT E. pense que ces amitoses sont nombreuses dans les processus cancéreux et leur décrit plusieurs phases :

La *protophase*, qui se caractérise par :

— une augmentation de volume du nucléole principal (PIANÈSE et TRAMBUSTI) qui peut passer inaperçue si elle s'accompagne d'une pulvérisation nucléolaire ;

— la disparition du réseau de linine (NEMILAU - PACAUT) et la précipitation des grains de chromatine autour des nucléoles et sur les bords de la membrane. PACAUT pense qu'il y aurait à ce moment une augmentation de la chromatine ;

— l'apparition d'une encoche formée par un pli de la membrane sur un des côtés du noyau ; cette encoche coïncide avec le plan passant par le milieu du nucléole qui est lui-même étiré.

La *mésophase* qui présente :

— un nucléole étiré qui va se diviser en deux nucléoles fils reliés l'un à l'autre par un filament colorable ;

— une augmentation du sillon apparu sur la membrane nucléaire ; ce sillon ne va pas tarder à faire le tour du noyau.

La *télicophase*, dans laquelle on voit apparaître à nouveau le réseau nucléaire. La chromatine va prendre enfin sa disposition normale sur le réseau.

E. GRYNFELT note encore qu'il n'est pas rare de voir les noyaux fils conserver leur structure péricaryochromatique.

Nous avons trouvé dans cette préparation les diverses phases de cette amitose. Nous avons décrit une protophase au début (fig. 6) qui est assez caractéristique. L'encoche de la membrane est très visible sur un des côtés du noyau, elle siège sur un plan

passant par la moitié du nucléole ; ce nucléole présente une structure assez spéciale : il est constitué par trois zones : à la périphérie et paraissant former le substratum, une substance colorée en jaune orangé. De part et d'autre du plan passant par l'encoche de la membrane se trouvent deux nucléoles de teinte plus claire entourée par une zone ayant pris une coloration beaucoup plus foncée, jaune brun.

Les granulations de chromatine colorées en bleu violacé sont toujours disposées ici sur un réseau jaune orangé.

A côté de ces cellules en division, nous notons de nombreuses atypies des cellules au repos (fig. 2 et 3). Ces cellules, déformées et volumineuses, présentent des noyaux de grande taille, irréguliers, dont les grains de chromatine bleu violacé sont disposés sur un réseau ayant pris une teinte jaune bistré. Les nucléoles de ces noyaux sont aussi hypertrophiés et de formes irrégulières, ils sont uniques ou multiples et présentent à leur intérieur un ou plusieurs nucléolules faiblement colorés.

CONCLUSIONS

Durant ces dernières années, l'histochemie du noyau de la cellule a fait beaucoup de progrès et nous a révélé la structure chimique et certains détails morphologiques de ce constituant sans lequel la vie cellulaire est impossible. FEULGEN a ouvert l'ère des découvertes en appliquant sa réaction nucléale et en mettant en évidence l'acide thymonucléique par la fonction pseudoaldéhydrique libérée par l'hydrolyse acide. BRACHET lui fit suite en diagnostiquant le siège de l'acide zymonucléique ou pentosonucléique dans la cellule. Enfin, la réaction de TURCHINI, CASTEL et KIEN permet de mettre en évidence l'acide thymonucléique et l'acide zymonucléique par les sucres qui sont libérés par l'hydrolyse ; mais tandis que les deux premières techniques ne permettent pas d'observer les détails de structure (la réaction de Feulgen ne colore ni le cytoplasme, ni les nucléoles, ni le réseau de linine), la réaction de Turchini, Castel et Kien nous permet de localiser non seulement les deux acides au sein de la cellule, mais encore d'observer des détails très fins dans la structure du noyau, et de plus donnant des réactions colorées avec tous les sucres, elle peut les mettre en évidence au sein des cellules, soit directement, soit après hydrolyse.

Le champ des recherches est ouvert, et nous ne doutons pas que la réaction nucléale de Turchini, Castel et Kien apporte encore des données nouvelles dans le domaine de l'histochemie animale et végétale.

Elle a déjà permis à TURCHINI, CASTEL et KHAU VAN KIEN de fixer la structure des noyaux animaux, des Levures et des Bactéries ; à TURCHINI et GOSSELIN, de voir la structure des noyaux végétaux et à nous-même d'approfondir la morphologie des cellules tumorales. Nous pouvons conclure de ces différentes études que les noyaux animaux et végétaux présentent :

— à l'état quiescent : des grains de chromatine bleu violacé disposés sur un réseau ayant pris une teinte identique à celle du nucléole plasmatique, c'est-à-dire jaune bistre ;

— à l'état de division : des chromosomes constitués par des chromomères ou des chromocentres bleu violacé disposés sur une substance jaune bistre ; une caryolympe incolore.

Sur les cellules tumorales nous avons retrouvé à peu près les mêmes dispositions :

Le noyau au repos, augmenté de volume et déformé, est constitué par un réseau jaune bistre. Sur ce réseau, les granulations chromatiques bleu violacé sont disposées plus ou moins régulièrement.

Les nucléoles sont, aussi, volumineux, déformés, uniques ou multiples. Ils prennent une coloration identique à celle des nucléoles normaux. Ils présentent quelquefois un nucléolule qui prend une teinte soit plus foncée que le reste du nucléole (dans notre cas d'épithélioma du corps thyroïde), soit plus claire (dans notre cas d'épithélioma métatypique du sein).

Le cytoplasme prend une teinte rose orangé tandis que dans les plasmocytes il est coloré en rose brun.

Dans les cellules en état de division caryocinétique, les chromosomes sont aussi constitués comme dans les cellules normales : chromomères bleu violacé, substance fondamentale jaune bistre. Une seule différence, ils ne sont pas disposés régulièrement sur la plaque équatoriale.

Dans les divisions par amitose, nous retrouvons les différentes phases décrites par E. GRYNFELT : protophase, mésophase, télécophase, et nous avons décrit une structure spéciale que prend le nucléole au début de la protophase.

Nous avons observé dans l'épithélioma métatypique du sein

des divisions par amitose beaucoup plus nombreuses que les divisions par caryocinèse. Fait déjà retenu par BECALOGLOU et PARBON (1926) dans les tumeurs nerveuses, par DELBET et MENDARO (1927), HARANT (1930) dans les cancers du sein, par E. GRYNFELTT dans la prolifération des cellules cancéreuses.

La réaction de Turchini, Castel et Kien, qui permet des colorations d'une extrême finesse et particulièrement facile à interpréter, confirme ce fait classique qu'on ne connaît pas de structure vraiment spécifique des cellules tumorales.

BIBLIOGRAPHIE

- BOIVIN (A.). — Les nucléoprotéides et la constitution chimique des microorganismes. (*Bull. de la Soc. de Chimie biologique*, 1942, t. XXIV, pp. 134-143.)
- FEULGEN (R.) et ROSSENBECK (H.). — Mikroskopisch-Chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten. (*Zeitschr. Physiol. Chem.*, 1924, t. 135, pp. 203-248.)
- GOSSELIN DE BEAUMONT (L.A.). — Etude des caractères morphologiques des noyaux interphasiques et quiescents chez les végétaux. (*Thèse Sciences Montpellier*, 1945, 499 p., 23 pl.)
- GRANEL (Fr.). — Thymocytes et lymphocytes. (*C. R. de la Soc. des Sc. méd. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, 7 juillet 1944, in *Montpellier Médical*, 3^e série, t. XXV-XXVI, p. 430.)
- L'interprétation du thymus à la lumière de l'histochemie. (*Bull. Ac. Sc. et Let. de Montpellier*, 1944, n^o 74.)
- GRYNFELT (E.). — Sur les structures spécifiques de la cellule cancéreuse. (*Bull. Ac. des Sc. et Let. de Montpellier*, 1933, n^o 63, pp. 24-25.)
- Sur l'hypertrophie du nucléole dans les cellules cancéreuses et le rapport nucléolo-nucléolaire. (*Bull. Ac. des Sc. et Let. de Montpellier*, 1934, n^o 64, pp. 24-26.)
- Les constituants morphologiques de la cellule dans le cancer. (*Biologie Médicale*, 1935, t. XXV, 78 p. et 8 pl.)
- HARANT (H.). — Remarques sur les caryosomes et l'amitose en cytopathologie. (*Bull. de l'Ass. fr. pour l'étude du Cancer*, 1930, t. XIX, pp. 216-228, 8 fig.)

- KHAU VAN KIEN (L.). — De quelques fluorones. Leurs propriétés chimiques et biologiques, leurs applications à la localisation des médicaments antimoniés dans l'organisme. (*Thèse Pharmacie Montpellier*, 1945, et *Mém. Sect. Sc.*, 3^e série, t. V, *Ac. des Sc. et Let. de Montpellier*, 90 p., 8 pl.)
- LEVADITI (C.). — Synthèse des nucléo-protéides et granulations cellulaires. (*Presse Médicale*, 17 mars 1945, n° 11, pp. 129-130.)
- LISON (I.). — *Histochimie animale*. (Collection des actualités biologiques, Gauthier-Villars, édit., 1936, p. 172.)
- MEITES (M.). — Etudes de la pycnose provoquée par les narcotiques. Application de la réaction nucléale de Turchini, Castel et Kien. (*C. R. de la Soc. des Sc. méd. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, 5 mai 1944, in *Montpellier Médical*, 1944, 3^e série, t. XXV-XXVI, pp. 283-284.)
- Action de l'eau et du benzène sur la structure de la cellule végétale. Contribution à l'étude physiologique et chimique de la cellule. (*Thèse Sciences Montpellier*, 1944, et *Mém. Sect. Sc.*, 3^e série, t. IV, *Ac. des Sc. et Let. de Montpellier*, 206 p., 18 fig., 24 pl.)
- TURCHINI (J.). — Rôle du nucléole dans l'histophysiologie cellulaire. (*Bull. Ac. des Sc. et Let. de Montpellier*, 1931, n° 60, pp. 30-31.)
- Hétérogénéité chromosomienne et historadiographie. Observations sur les noyaux des glandes salivaires de Chironomes. (*Bull. Ac. des Sc. et Let. de Montpellier*, 1941, n° 71, pp. 87-88.)
- Nouvelles observations caryologiques. (*Bull. Ac. des Sc. et Let. de Montpellier*, 1945, n° 75.)
- TURCHINI-(J.), CASTEL (P.) et KHAU VAN KIEN (L.). — Une nouvelle coloration nucléaire. Coloration cytologique des noyaux par une fluorone. (*C. R. de la Soc. des Sc. méd. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, 7 mai 1943, in *Montpellier Médical*, 1943, 3^e sér., t. XXIII-XXIV, pp. 440-441.)
- Colorations nucléaires par des fluorones et leur rapprochement avec la réaction nucléale de Feulgen pour la distinction des acides thymino et zymonucléique. (*C. R. de la Soc. des Sc. méd. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, 2 juillet 1943, in *Montpellier Médical*, 1943, 3^e sér., t. XXIII-XXIV, pp. 599-600.)
- Contribution à l'étude de l'action des fluorones sur les acides nucléiques cellulaires et sur quelques sucres. (*Bull. de la Soc. de chimie biologique, Travaux*, 1943, t. XXV, pp. 1329-1335.)
- Colorations histologiques par des laques ferriques aux fluorones. (*C. R. de la Soc. des Sc. méd. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, 5 mai 1944, in *Montpellier Médical*, 1944, 3^e sér., t. XXV-XXVI, p. 285.)

- Contribution à l'étude histochimique de la cellule. Une nouvelle réaction nucléale. (*Bull. d'Histol. appl.*, 1944, t. XXI, pp. 124-127.)
 - Tuberculine et fluorones. (*Bull. Ac. des Sc. et Let. de Montpellier*, 3 juillet 1944, n° 74.)
 - Réactions nucléales et structures du noyau. (*C. R. de la Soc. des Sc. méd. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, 7 juillet 1944, in *Montpellier Médical*, 1944, 3^e sér., t. XXV-XXVI, pp. 396-402, 1 pl.)
 - Les fluorones réactifs des sucres et leur application à l'étude de constituants cellulaires. Une nouvelle réaction nucléale. (*Acta anatomica*, Bâle, t. I.)
- TURCHINI (J.), et GOSSELIN DE BEAUMONT (L.A.). — Applications d'une réaction nucléale nouvelle à l'étude des divers noyaux de cellules végétales. (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 1945, t. CXXXIX.)
- VERNE (J.). — La détection histochimique des nucléines. (*Bull. d'Histol. appl.*, 1927, t. IV, pp. 110-121.)
- VIGIER. — Le Nocléole. Morphologie et Physiologie. (*Thèse Médecine Paris*, 1909, 111 p.)
-

PLANCHE

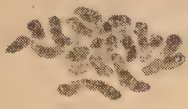
RÉACTION DE TURCHINI, CASTEL ET KIEN

SUR DIFFÉRENTES TUMEURS.

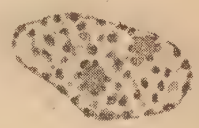
EXPLICATION DE LA PLANCHE

Réaction de Turchini, Castel et Kien sur différentes tumeurs.

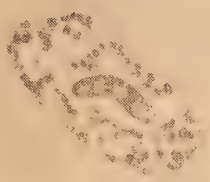
- 1° **Epithélioma métatypique du sein.** Noyau en division. Métaphase atypique. Plaque équatoriale irrégulière. Chromosomes hétérogènes : chromomères colorés en bleu violet, le reste du chromosome étant jaune bistre. Le cytoplasme est jaune clair.
- 2°-3° **Epithélioma métatypique du sein.** Noyaux volumineux au repos. Les grains de chromatine bleu violacé sont placés sur un réseau jaune bistre ; les nucléoles volumineux, de différentes formes, uniques ou multiples, ont une teinte jaune bistre et présentent en leur centre un ou plusieurs nucléoles faiblement colorés. Les cytoplasmes ont une teinte jaune clair.
- 4° **Tumeur mixte de la sous-maxillaire.** Noyau volumineux déformé. Grains de chromatine bleu violacé sur réseau jaune bistre. Nucléoles volumineux et multiples de teinte jaune bistre. Grains de chromatine agglomérés sur les bords de la membrane nucléaire et autour des nucléoles. Cytoplasme jaune clair.
- 5° **Cancer du corps thyroïde.** Noyau volumineux, déformé. Grains de chromatine bleu violacé sur réseau jaune bistre. Nucléoles jaune bistre avec un nucléolule plus foncé.
- 6° **Epithélioma métatypique du sein.** Cellule en amitose. Sur le bord du noyau l'encoche de la membrane est très visible. En face de cette encoche un nucléole paraissant en train de se diviser, présentant deux nucléolules entourés par une zone marron foncé, le tout reposant sur une substance de teinte jaune orangé.
- 7° **Epithélioma métatypique de la peau.** Cellule allongée, volumineuse. Noyau volumineux et allongé présentant très peu de granulations chromatiques et possédant deux nucléoles volumineux. Le cytoplasme est aussi coloré en jaune orangé.
- 8° **Plasmocytes dans une tumeur mixte de la sous-maxillaire.** Noyau arrondi rejeté à la périphérie de la cellule qui a une forme allongée. Le cytoplasme est coloré en jaune plus foncé que le cytoplasme des cellules cancéreuses. Le noyau est aussi plus foncé, les grains de chromatine sont plus nombreux et plus gros, mais le réseau jaune orangé est toujours visible.



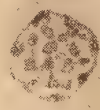
1



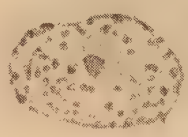
4



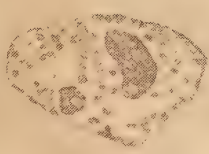
2



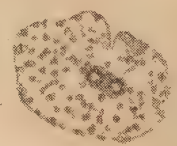
8



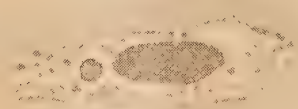
5



3



6



7

0 10 μ

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	9
--------------------	---

CHAPITRE PREMIER

Techniques	13
I. La réaction nucléale de Feulgen-Rossenbeck	13
II. La technique de Brachet	16
III. La réaction de Turchini, Castel et Kien	17

CHAPITRE II

Résultats obtenus sur les noyaux des cellules animales et végétales.	21
1° Noyaux quiescents	21
2° Noyaux en division	23
3° Levures	25
4° Bactéries	25

CHAPITRE III

Étude de quelques cellules tumorales	27
1 ^o Tumeur mixte de la sous-maxillaire	27
2 ^o Epithélioma métatypique de la peau	28
3 ^o Epithélioma thyroïdien	29
4 ^o Epithélioma métatypique du sein	30
 Conclusions	 33
 Bibliographie	 37
 Planche	 43

SERMENT

En présence des Maîtres de cette École, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure au nom de l'Etre Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je reste fidèle à mes promesses, que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

En ma qualité de Censeur de
tour, j'ai lu la Thèse ayant pour
titre :

*La réaction nucléale de Turchini,
Castel et Kien. Son application
à l'étude de quelques cellules tu-
morales.*

par Bernard MAZEL,

Je pense que la Faculté peut
en permettre l'impression.

Montpellier, le 16 Juillet 1945.

Le Président de la thèse :

TURCHINI.

Vu :

Montpellier, le 18 Juillet 1945

le Doyen :

G. GIRAUD.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Montpellier, le 19 Juillet 1945.

pour le Recteur :

le Doyen délégué,

P. MATHIAS.

